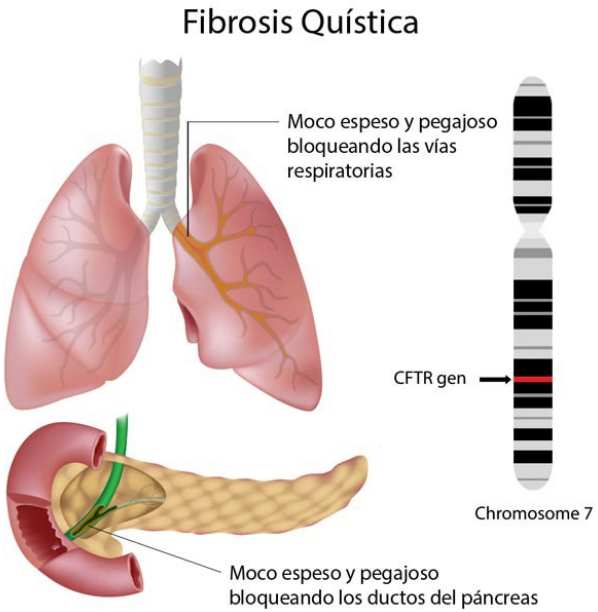
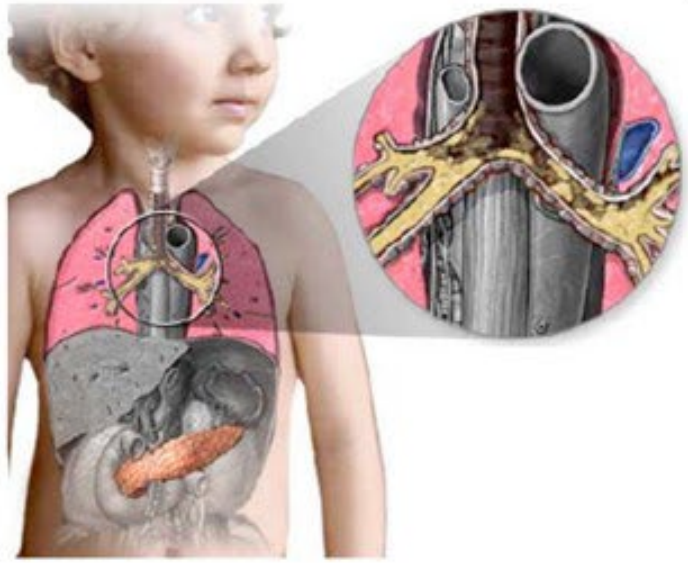
TEMA 8. PATOLOGÍA MOLECULAR EN EL TRANSPORTE DE MEMBRANAS: FIBROSIS QUÍSTICA.

- Base molecular de la fibrosis quística.
- Clasificación de mutaciones.
- Fenotipos clínicos.
- Diagnóstico.
- Tratamiento farmacológico.





FIBROSIS QUÍSTICA.

* Enfermedad congénita autosómica recesiva que provoca la **ACUMULACIÓN DE MOCO ESPESO Y PEGAJOSO** en los **pulmones, páncreas, hígado, tubo digestivo** y otras áreas del cuerpo.

* Alteración de las glándulas de secreción externa producida por una mutación en el gen **CFTR** (*cystic fibrosis transmembrane regulator*).

* Produce **tos crónica, insuficiencia pancreática, enfermedad hepática, gastrointestinal y azoospermia.**

Incidencia 1/5000 niños en España

FOLKLORE POPULAR DEL NORTE DE EUROPA

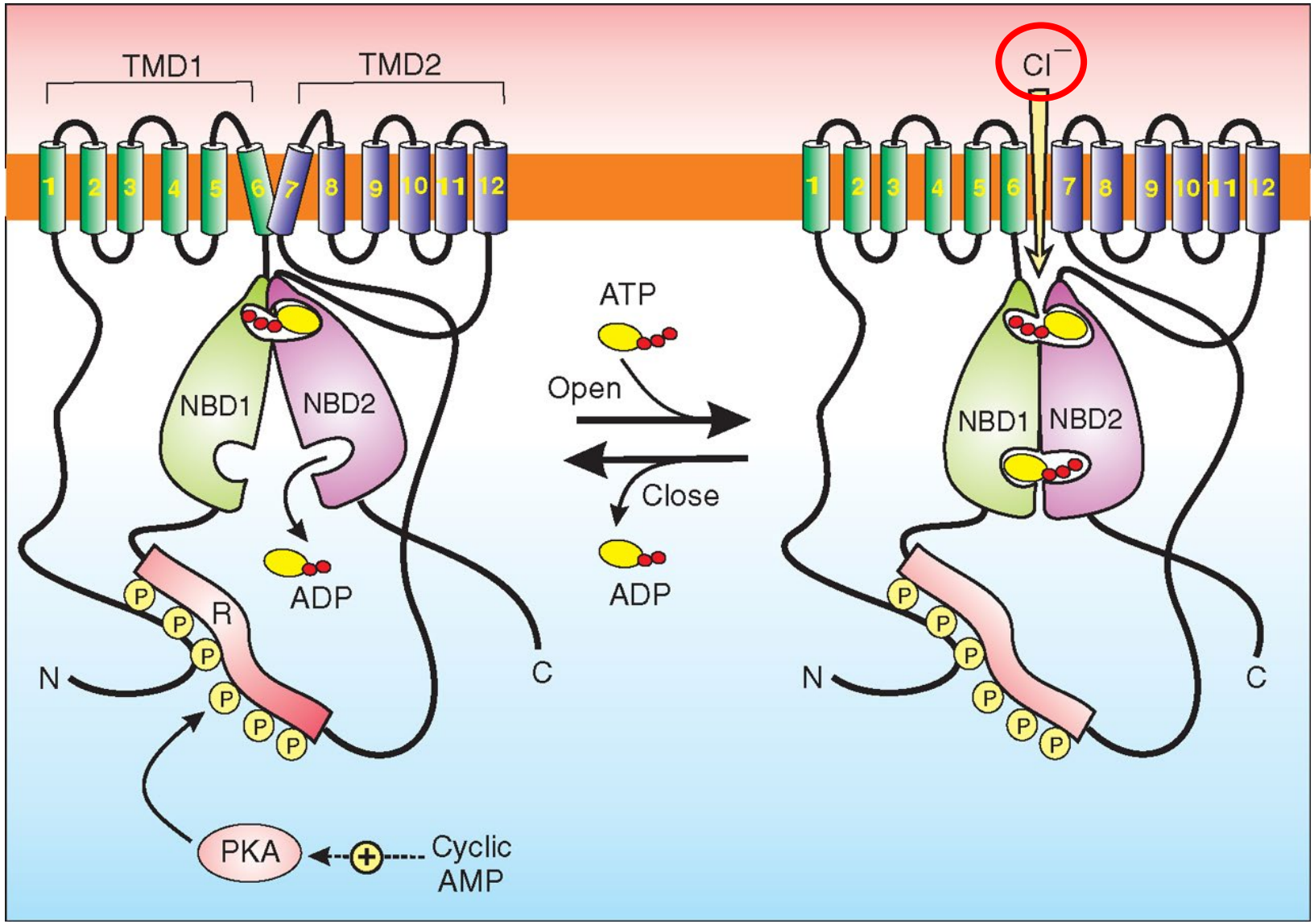
"Miserable es el niño que al ser besado en la frente tiene gusto a sal. Está embrujado y pronto morirá"

Definió esta enfermedad y la correlacionó con trastornos pulmonares e intestinales.

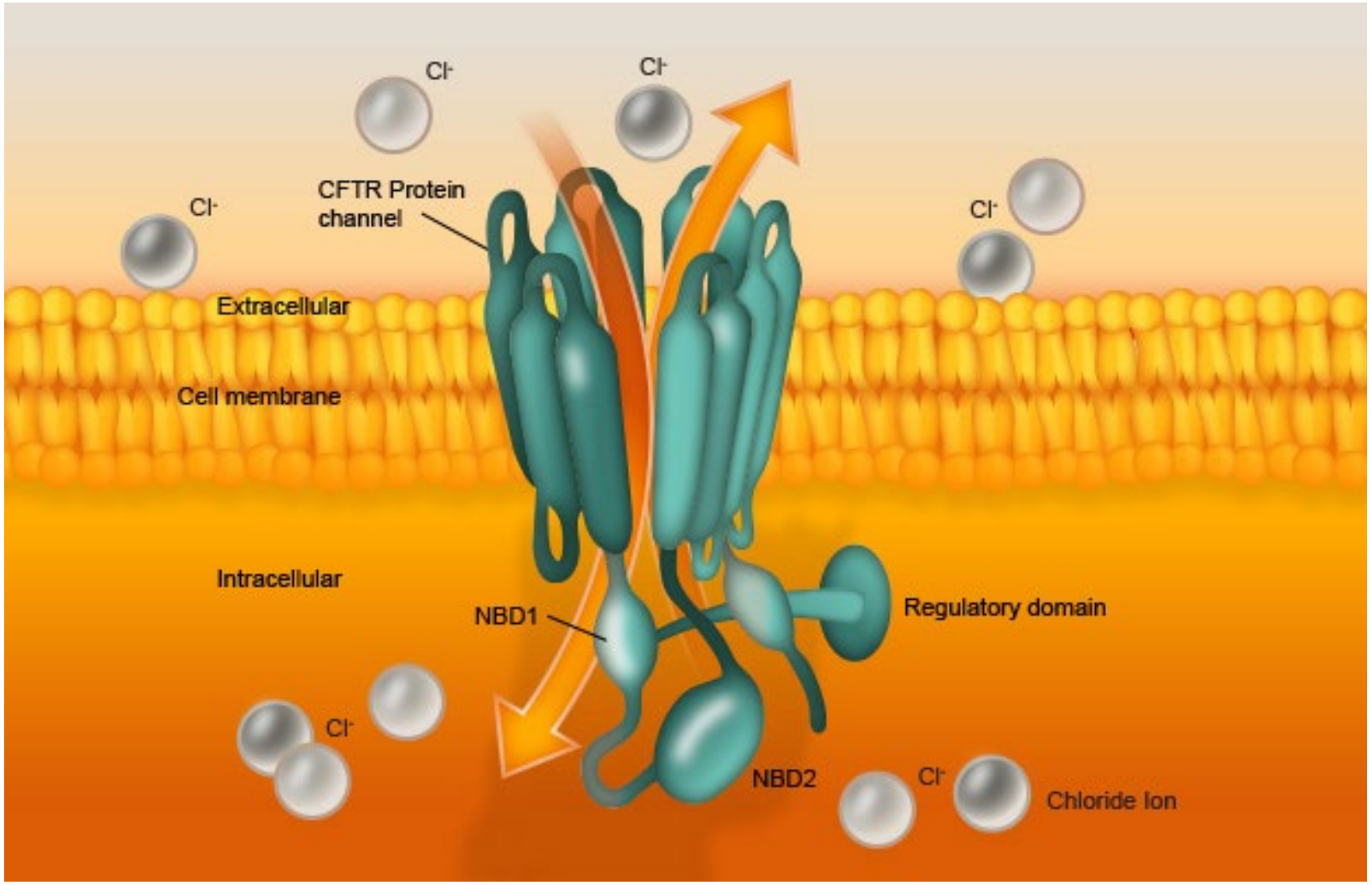
"Cystic fibrosis of the pancreas and its relation to celiac disease: a clinical and pathological study" en la American Journal of Diseases of Children.

Dorothy Anderson (1938)

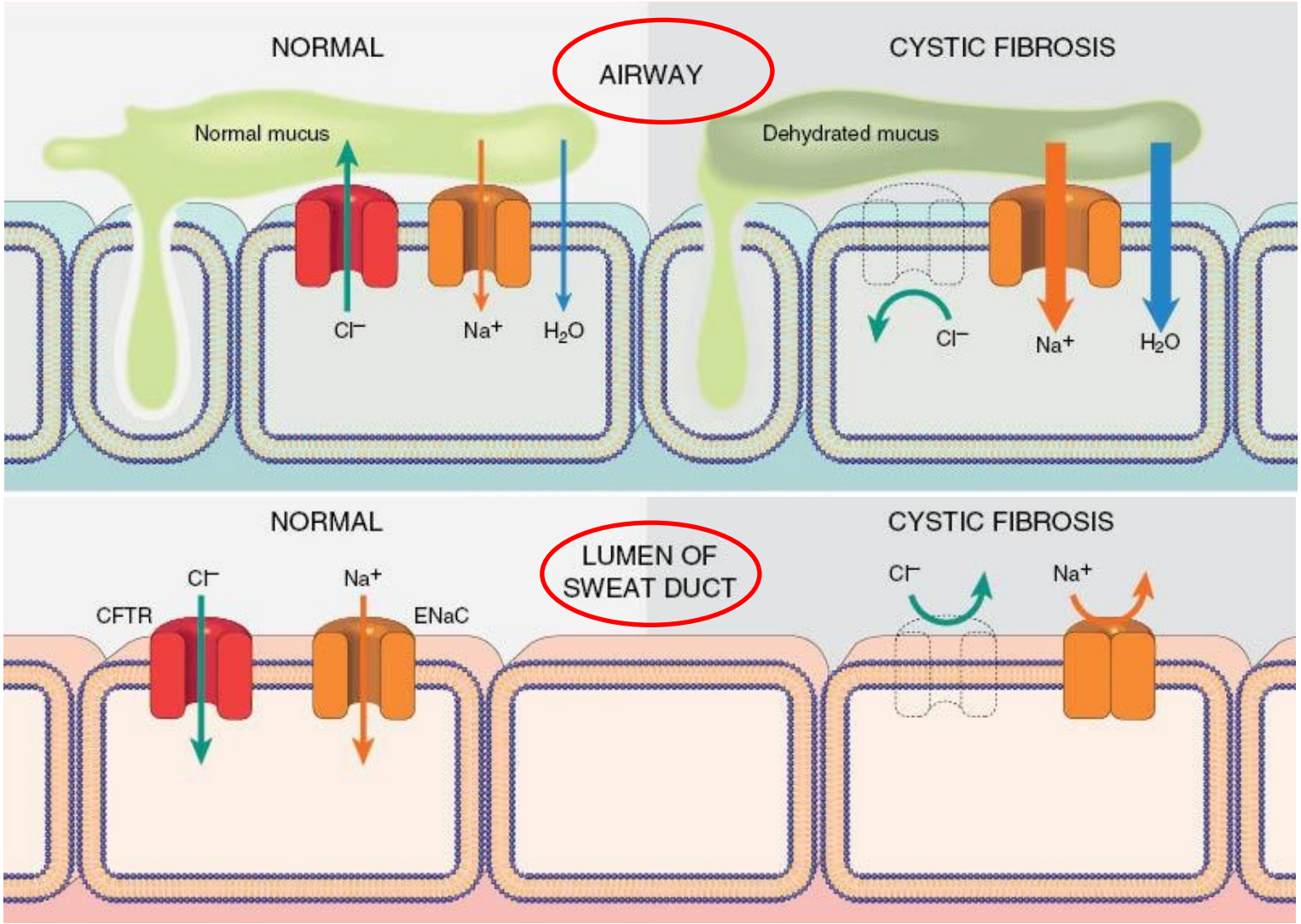
- La proteína **CFTR transporta iones cloruro** a través de las células epiteliales.
- Consta de un par de dominios, cada uno constituido por **6 HÉLICES ALFA,** posibilita el paso de la proteína a través de la membrana celular. También tiene **2 dominios NBD** capaces de hidrolizar ATP, lo que permite utilizar energía.
- Se activa por fosforilación en un sitio de unión **REGULADOR**, sobre todo mediante la proteína quinasa A.



El gen **CFTR** (gen regulador de la conductancia transmembrana) codifica una proteína que es un **canal de cloruros** en las membranas de las células epiteliales (pulmonar, nasal, piel, páncreas…). También regula el transporte de otros iones como el **Na^+ y K^+ y el agua.**



MECANISMO DE ACCIÓN



- Transporte de CL^- al exterior disminuido
- Hiperabsorción de Na^+
- Entrada de agua por ósmosis

⬇

Secreciones espesas que favorece las **infecciones** y **obstrucción de las vías** repiratorias.

-Reabsorción de CL^- disminuida
- Captación de Na^+ disminuida

⬇

SUDOR SALADO

ENFERMEDAD MULTISISTÉMICA

1- **PANCREAS**: obstrucción de la secreción enzimática al duodeno → **una malabsorción general** → trastornos digestivos, malnutrición y menor ganancia de peso y estatura.

2.- **PULMÓN**: Las secreciones espesas facilitan el crecimiento de bacterias → **infecciones** → causa importante de MORTALIDAD.

3.- **HIGADO**: La bilis bloquea las vías biliares y lesiona los tejidos adyacentes → **cirrosis**.

4.- **GLÁNDULAS SUDORÍPARAS**. **Pérdida de ClNa** en el sudor.

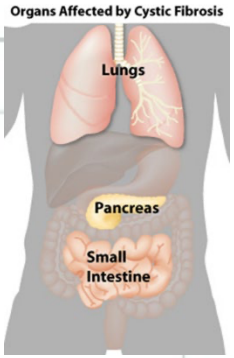
5.- **CONDUCTOS DEFERENTES**: Causa de **infertilidad**.

Síntomas clínicos de la fibrosis quística.

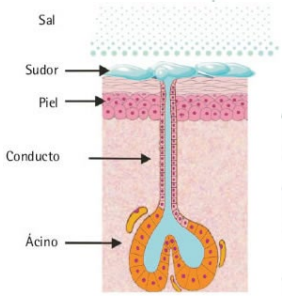
Enfermedad pulmonar crónica:

- Tos productiva crónica.
- Colonización con patógenos S. aureus, P. aeruginosa.
- Obstrucción aérea.
- Anormalidades crónicas en la radiografía pectoral.
- Pólipos nasales.

Enfermedad gastrointestinal:

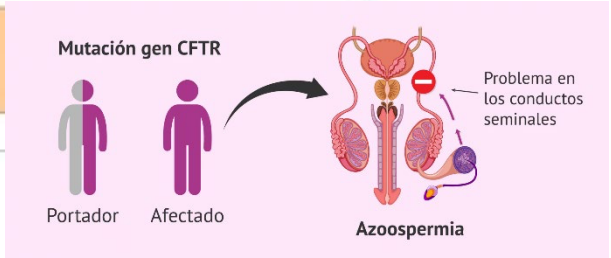


- Íleo en meconio, síndrome de obstrucción intestinal, prolapso rectal.
- Insuficiencia pancreática y pancreatitis.
- Enfermedad hepática, cirrosis biliar.
- Edema con hipoproteinemia, deficiencia de vitaminas liposolubles.



Sudor salado con alcalosis metabólica.

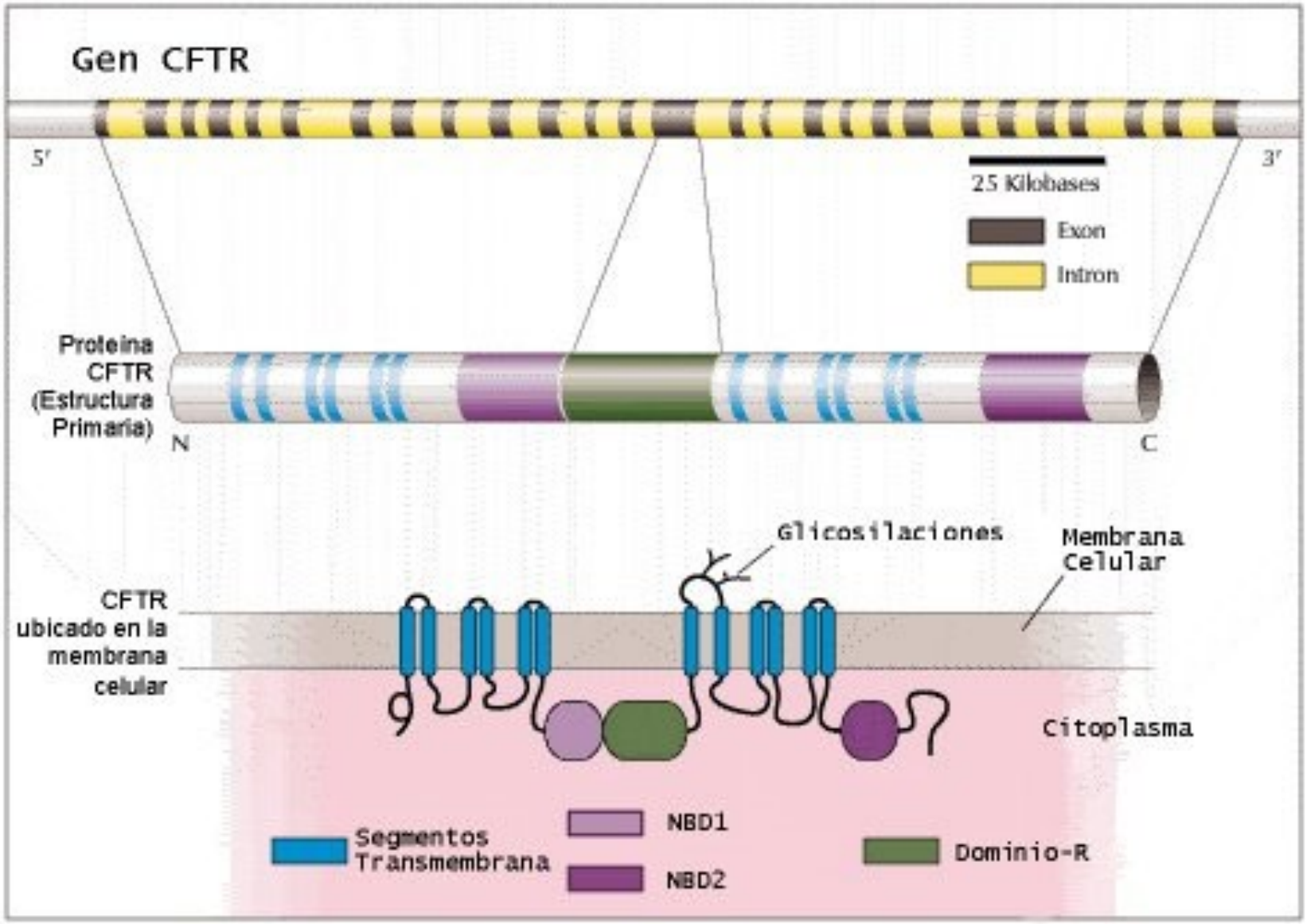
Infertilidad en los varones por azoospermia



EPIDEMIOLOGÍA

Origen étnico/raza	Posibilidad de ser portador de FQ	Posibilidad de que ambos miembros de la pareja sean portadores de FQ
Europeo caucásico, Askenazi	1 / 29	1 / 841
Hispano americano	1 / 46	1 / 2116
Afro americano	1 / 65	1 / 4225
Asiático-americano	1 / 90	1 / 8100

Dedos más grandes y en forma de palillo de tambor: **acropaquia** (engrosamiento de las falanges distales de los dedos y curvatura anormal de las uñas)


Gen CFTR
5'
3'
25 Kilobases
Exon
Intron
Proteina
CFTR
(Estructura
Primaria)
N
C
Glicosilaciones
Membrana
Celular
CFTR
ubicado en la
membrana
celular
Citoplasma
Segmentos
Transmembrana
NBD1
NBD2
Dominio-R

27 EXONES

MUTACIONES DE CFTR

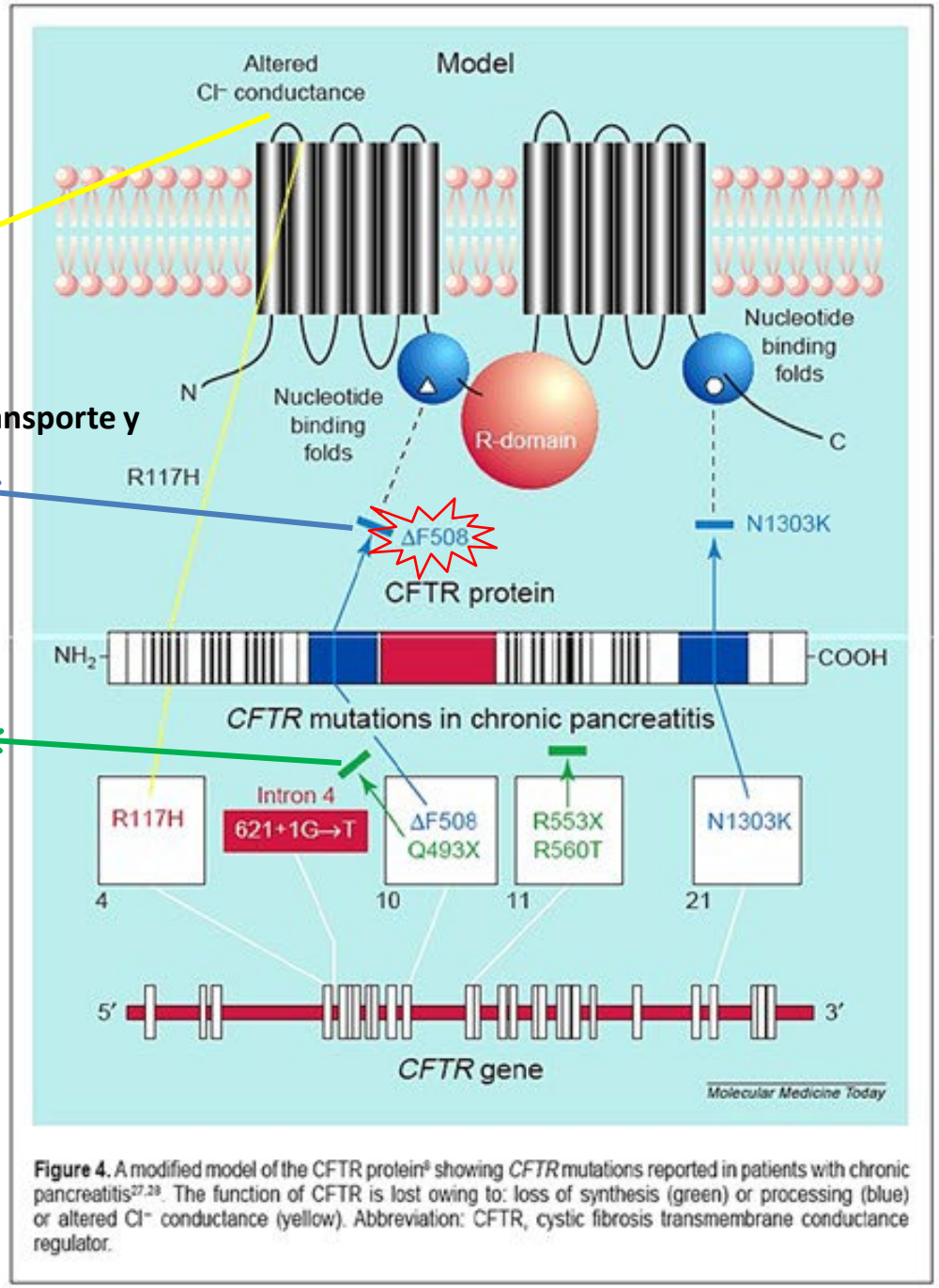


Figure 4. A modified model of the CFTR protein[8] showing *CFTR* mutations reported in patients with chronic pancreatitis[27,28]. The function of CFTR is lost owing to: loss of synthesis (green) or processing (blue) or altered Cl^- conductance (yellow). Abbreviation: CFTR, cystic fibrosis transmembrane conductance regulator.

Conductancia alterada

Fallo en el transporte y plegamiento.

Pérdida de síntesis

-El **gen CFTR** está localizado en el brazo largo del cromosoma 7

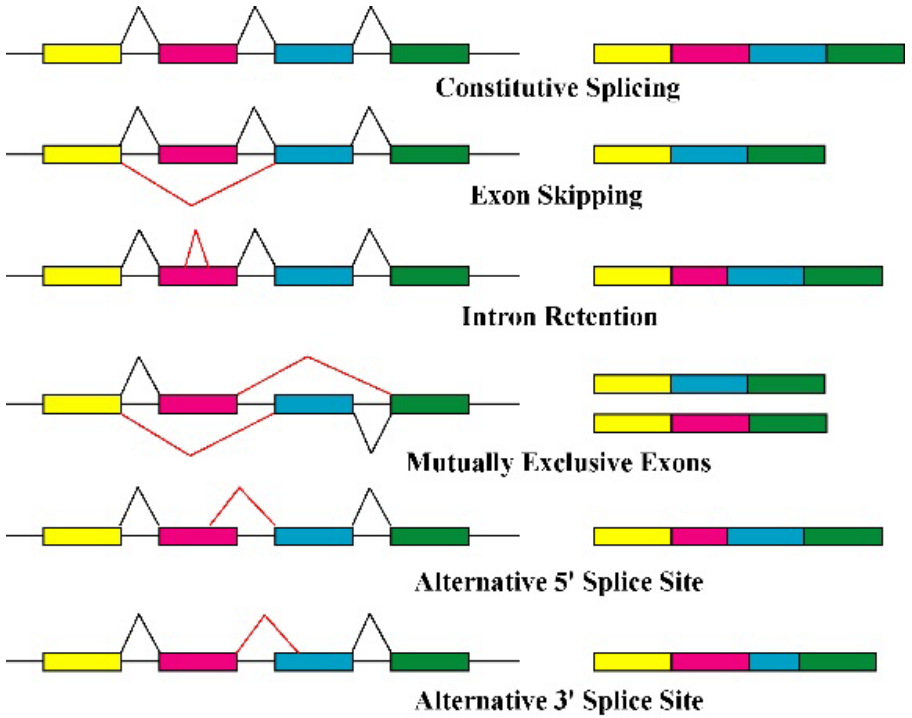
- La mayor parte de los defectos son **mutaciones puntuales** de una única base o bien **deleciones o duplicaciones** de un pequeño número de nucleótidos

- La **pérdida de función de CFTR** puede deberse a:

- pérdida de síntesis.
- fallo en el transporte y plegamiento
- alteración en la conductancia

CFTR: PROCESAMIENTO ALTERNATIVO

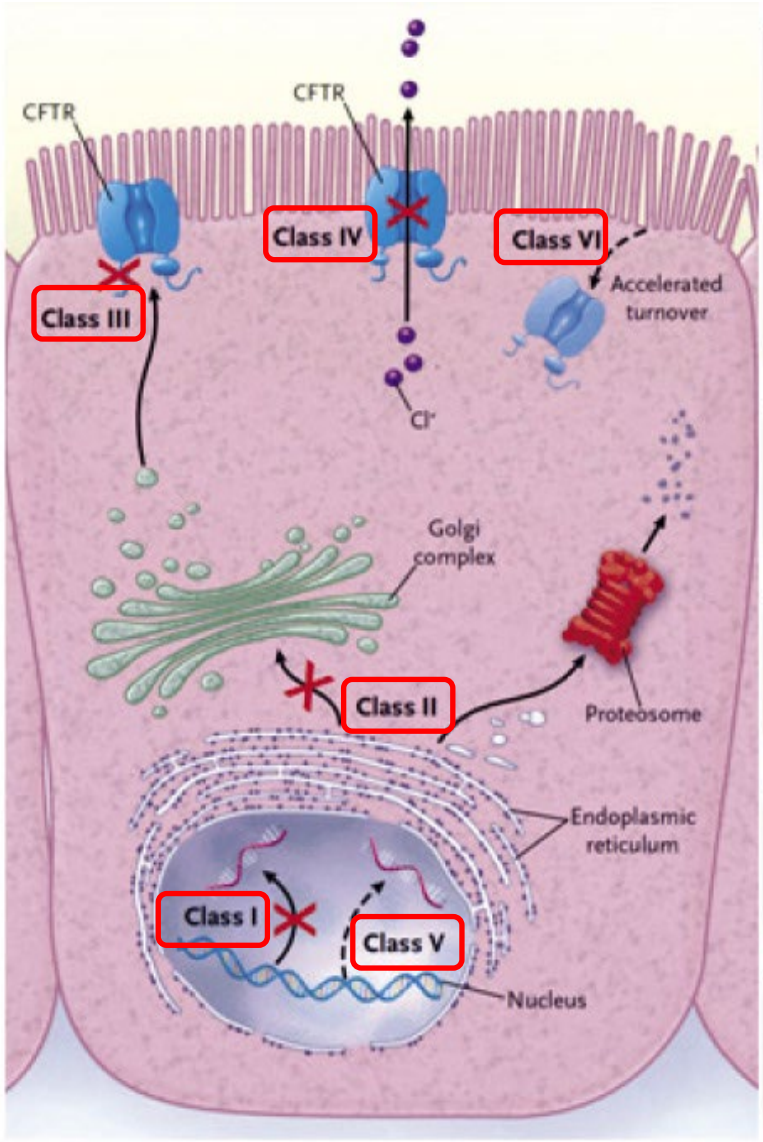
• Se ha comprobado que algunos exones son **procesados de diferente manera** en la maduración del ARMm, en diferentes tejidos y tipos celulares. Es un mecanismo adicional en la **REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA**.



• En **epitelio bronquial y nasal** se han vistos transcritos más cortos debido a la **carencia del exón 9, y se correlaciona con una mayor gravedad de la enfermedad.**

Hay descritas más de 2.000 mutaciones localizadas en la región codificante.

Las mutaciones en NBD1 representan el 70% de casos en el mundo.



CLASE I	•Defecto de síntesis	- **Mutación sin sentido**. Se produce un codón de terminación de la transcripción del ARN. Ausencia parcial o total de la proteína.
CLASE II	•Defecto de procesamiento y tráfico intracelular	- **Bloqueo en el procesamiento postraduccional** que causa un defecto en el plegamiento y transporte de la proteína.
CLASE III	•Defecto de activación y regulación	- **Bloqueo en la regulación de los canales de cloro**. Reducción de la actividad o pérdida de su función.
CLASE IV	•Defecto de conductancia	- **Reducción de la conducción de iones** que ocasiona una disminución en su transporte.
CLASE V	•Reducción de la cantidad	- **Síntesis reducida de la proteína**. Se altera la estabilidad del ARNm. Las proteínas no son bien procesadas y son ineficientes.
CLASE VI	•Renovación acelerada	- **Reducción de la vida media** de la proteína debido a un aumento de la inestabilidad de la proteína CFTR en la superficie celular.

Relación genotipo/fenotipo

Hay mas de 2000 mutaciones	
ΔF508, 70% en el norte de Europa	G542X , 50% en España

Clase	Proteína	Ejemplo	Consecuencia clínica
I	Ausente o truncada	G542X W1282X R1162X 390InsT	INSUFICIENCIA PANCREÁTICA
II	Procesamiento defectuoso	ΔI507 ΔF508 S549R A559T N1303K	INSUFICIENCIA PANCREATICA
III	Regulación defectuosa	G551D G551S G1244E S1255P G1349D	INSUFICIENCIA PANCREATICA
IV	Conductancia anómala	R117H R334W r347P	SUFICIENCIA PANCREATICA
V	Sintesis reducida	IVS8-6(5T)	SUFICIENCIA PANCREATICA

GRAVES

LEVES

SÓLO LA FUNCIÓN PANCREÁTICA SE CORRELACIONA CON EL TIPO DE MUTACIÓN.

FACTORES QUE INFLUYEN EN LA SEVERIDAD DE LA FIBROSIS QUÍSTICA

1.- FACTORES AMBIENTALES: estado **nutricional**, **edad** en que comienzan las infecciones pulmonares, **aumento de temperatura** ambiental, **fiebre**, el **ejercicio físico**, **estrés**, **vómitos** o **diarrea**, ➡ deshidratación con alcalosis metabólica (desequilibrio de elecrolitos).

2.- OTROS GENES

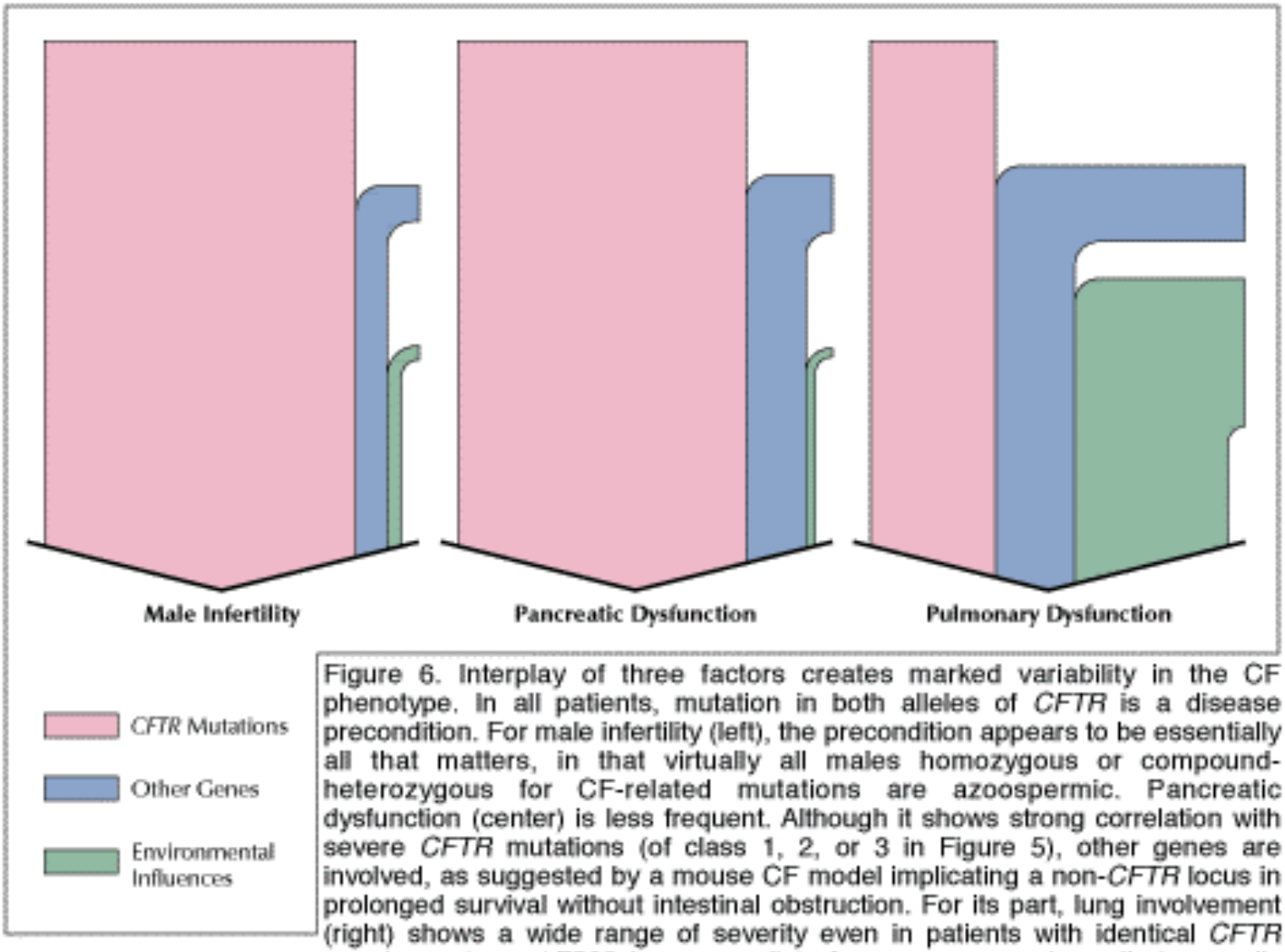
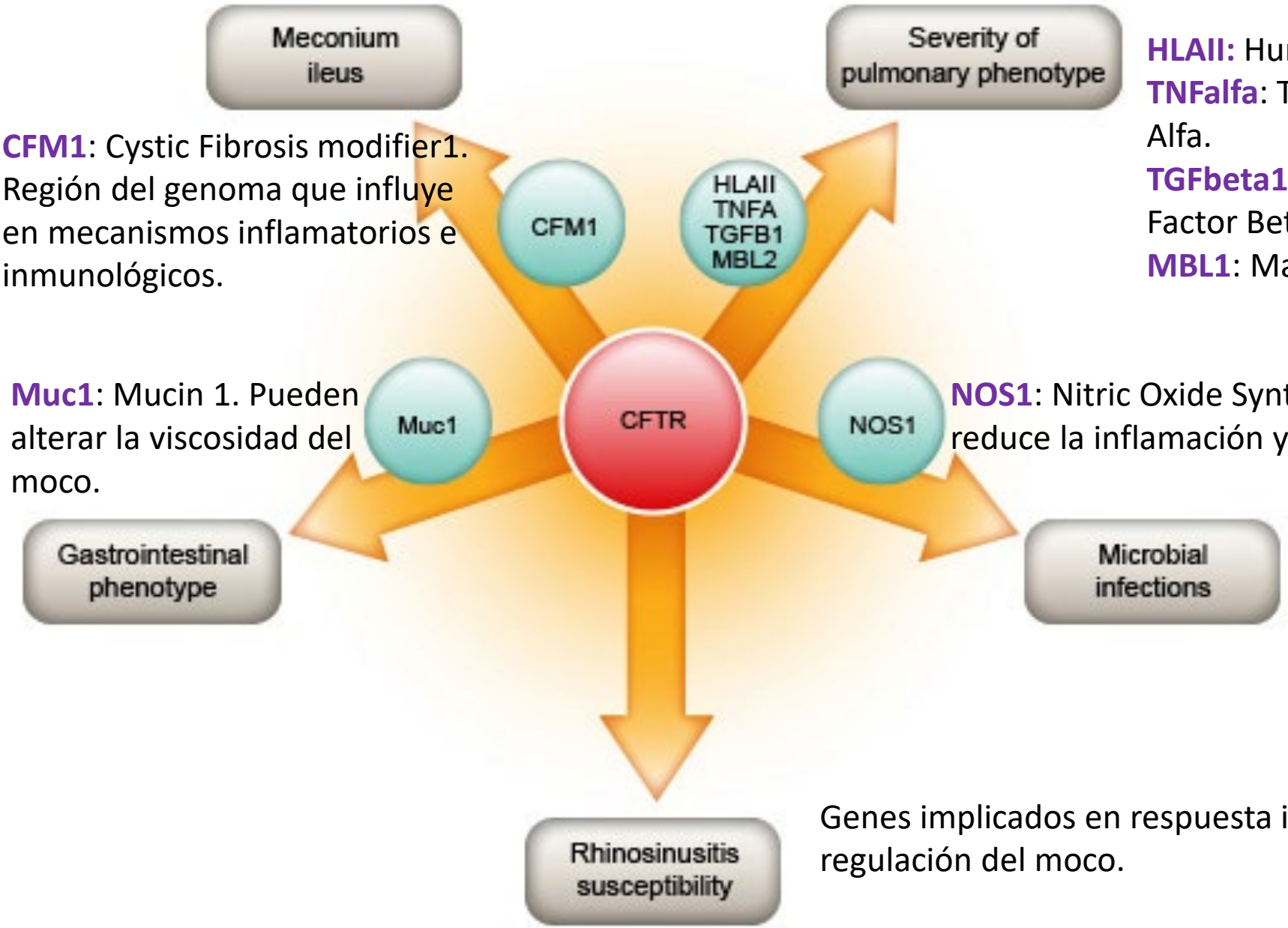


Figure 6. Interplay of three factors creates marked variability in the CF phenotype. In all patients, mutation in both alleles of *CFTR* is a disease precondition. For male infertility (left), the precondition appears to be essentially all that matters, in that virtually all males homozygous or compound-heterozygous for CF-related mutations are azoospermic. Pancreatic dysfunction (center) is less frequent. Although it shows strong correlation with severe *CFTR* mutations (of class 1, 2, or 3 in Figure 5), other genes are involved, as suggested by a mouse CF model implicating a non-*CFTR* locus in prolonged survival without intestinal obstruction. For its part, lung involvement (right) shows a wide range of severity even in patients with identical *CFTR* genotypes (e.g., ΔF508 homozygosity). Among organ systems that normally express *CFTR*, the airway is maximally exposed to the environment.

2. MODIFICADORES GENÉTICOS QUE AFECTAN A LA ENFERMEDAD



RESPUESTA INMUNE (activa inflamación):

HLAII: Human Leukocyte Antigen.
TNFalfa: Tumor Necrosis Factor Alfa.
TGFbeta1: Transforming Growth Factor Beta 1.
MBL1: Mannose-binding Lectin

CFM1: Cystic Fibrosis modifier1. Región del genoma que influye en mecanismos inflamatorios e inmunológicos.

Muc1: Mucin 1. Pueden alterar la viscosidad del moco.

NOS1: Nitric Oxide Synthase 1. Oxido Nítrico reduce la inflamación y previene de infecciones.

Genes implicados en respuesta inmune, inflamación y regulación del moco.

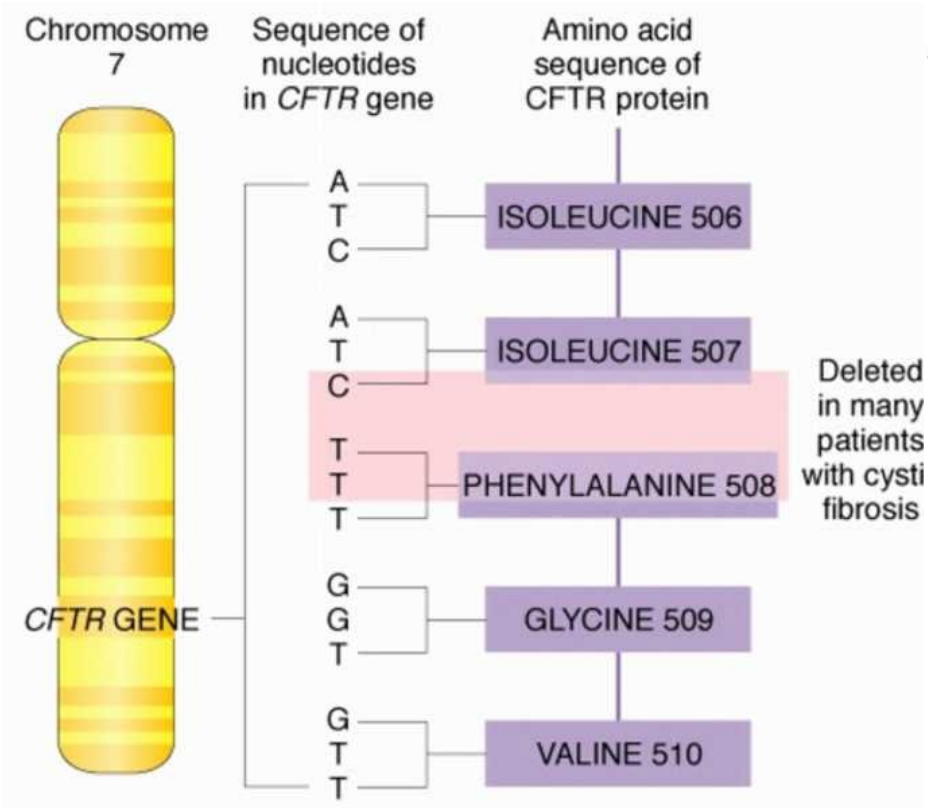
BASE MOLECULAR DE LA MUTACIÓN ΔF508

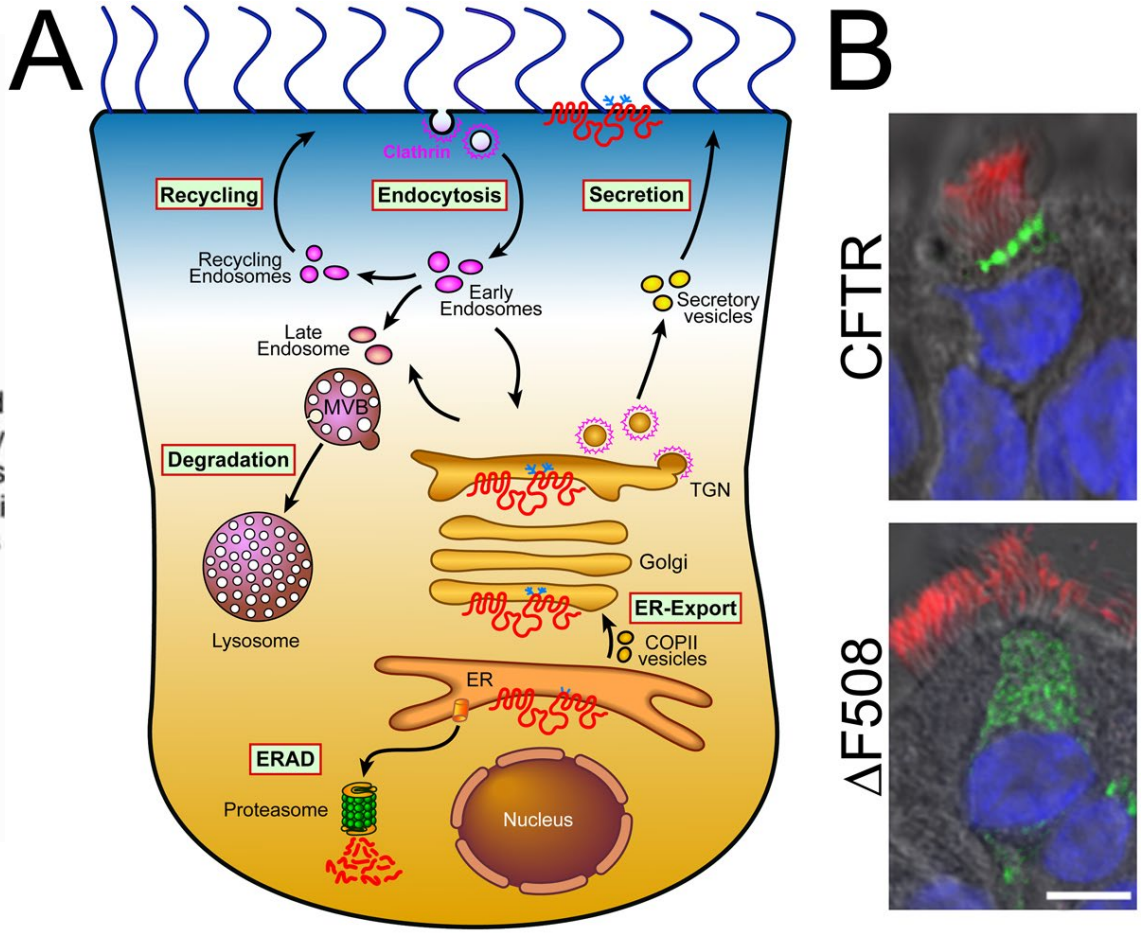
Es la mutación **más frecuente**.

La electroforesis muestra una proteína inmadura de 135 kDa que **no esta glicosilada** y queda retenida en el retículo endoplásmico asociada a dos **chaperoninas**, (ayudan al plegamiento de proteínas) la calnexina y hsp70, que la conducen al **sistema de degradación** ubiquitin-proteosoma.

La mutación afecta a la **glicosilación y al plegamiento correcto**

MUTACIÓN ΔF508

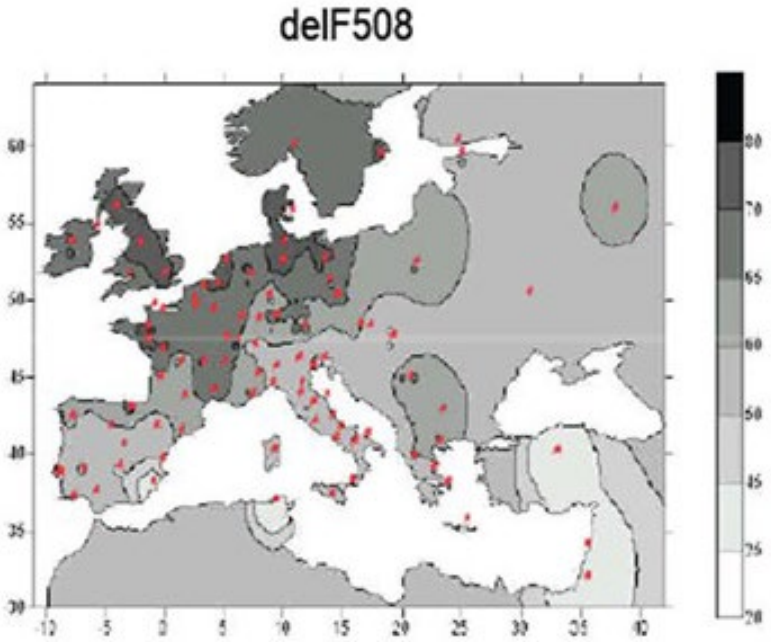




DEFECTO EN EL PLEGAMIENTO DE LA PROTEÍNA
Y EN EL TRANSPORTE HACIA LA SUPERFICIE

Beneficios de ΔF508: VENTAJA SELECTIVA

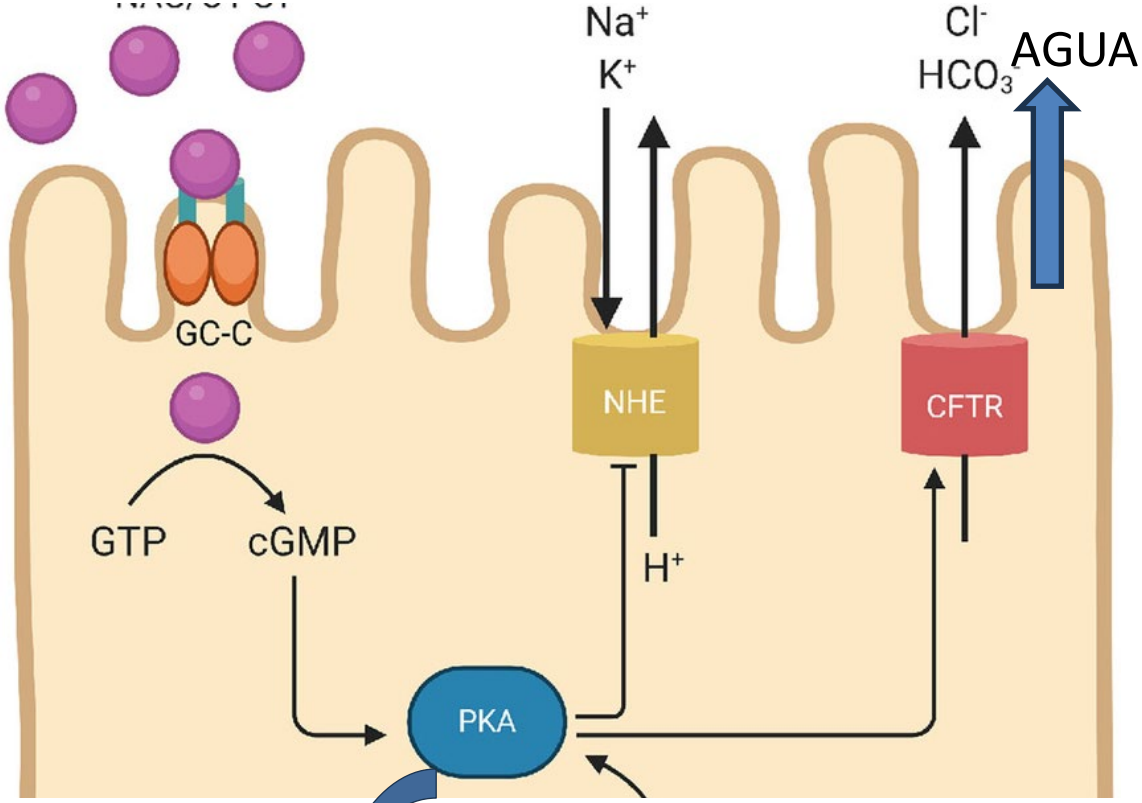
La mutación ΔF508 se da desde hace más de 5.000 años en el Norte de Europa

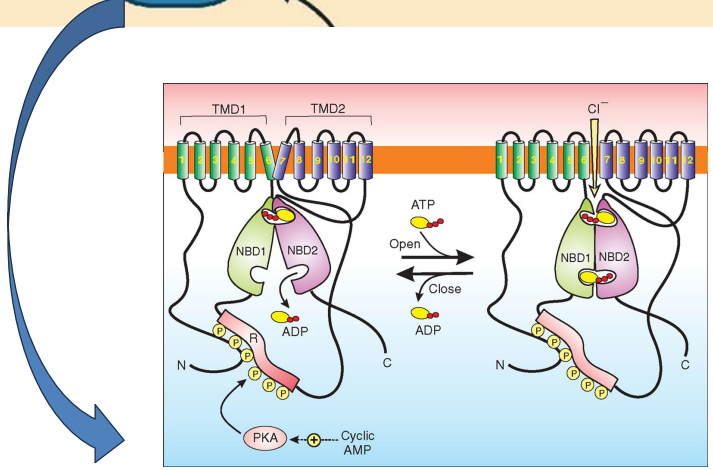


- Los individuos con **2 copias** de la mutación ΔF508, generalmente **no pueden reproducirse.**
- Los que tienen **una sola copia ΔF508** reducen la pérdida de agua durante los períodos de cólera y tifus, aumentando la probabilidad de **supervivencia (protección frente a deshidratación).**

MENOR ACTIVIDAD DE CFTR → MENOS PÉRDIDA DE AGUA EN INFECCIONES

MECANISMO DE ACCIÓN DE LA TOXINA DEL CÓLERA





Unión a Guanilato-ciclasa intestinal

↓

Se forma cGMP a partir de GTP

↓

Se activa PKA

↓

Fosforilación de CFTR y su activación:

↓

* Se estimula la secreción de Cl-
* Disminuye la absorción de Na
* Salida de agua (diarrea)

EL ALELO MUTANTE ΔF508 EN LOS HETEROCIGOTOS IMPIDE ESTOS PROCESOS

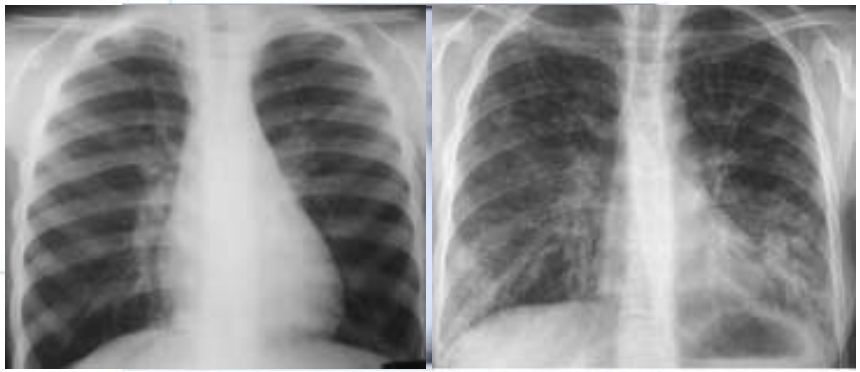
Diagnóstico (I).

1.- **Prueba del sudor** (cloruro): examen para determinar la cantidad de **cloruro en el sudor,** el cual entra por capilaridad.

2.- **Análisis de sangre**: en las células sanguíneas se determinan posibles **mutaciones en el gen CFTR**. También se evalúa la existencia de **infecciones**.

4.- **Pruebas de función pulmonar**: Ayudan a medir la capacidad de los pulmones para realizar correctamente **el intercambio de oxígeno y dióxido de carbono**.

3**.- Radiografías de tórax**: Vías respiratorias dañadas debido a la **infección e inflamación** de forma continuada: patrón reticulonodular. Aparecen también **quistes** y **tapones mucosos**.



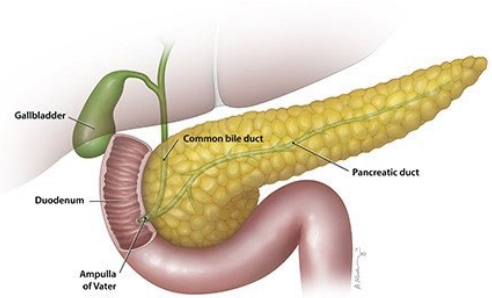
Progresión de las lesiones pulmonares

Diagnóstico (II)

- 5.- **Cultivos de esputo**: examen de diagnóstico que se realiza con las flemas expulsadas de los pulmones hacia la boca. El cultivo de esputo suele realizarse para determinar la presencia de una **infección**.

- 6**.- Exámenes de las heces**: para medir la eliminación **de grasas en las heces.**

- 7.- **Pruebas de la función pancreática.** Detección **de tripsinógeno inmunoreactivo** (TIR). Las secreciones espesas alteran la liberación de tripsinógeno, lo que causa un **aumento en sus niveles en sangre**.



Tratamiento de la FQ.

Drenaje postural: **percusión en el pecho** y eliminación de secreciones.

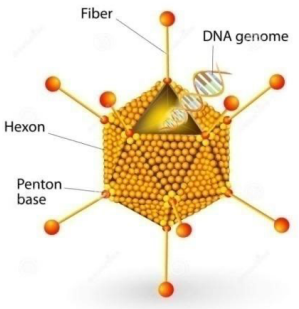
Antibióticos para las **infecciones** pulmonares recurrentes.

Aerosoles con DNAsa: degradan DNA procedente de la lisis de bacterias. **Reduce la viscosidad**.

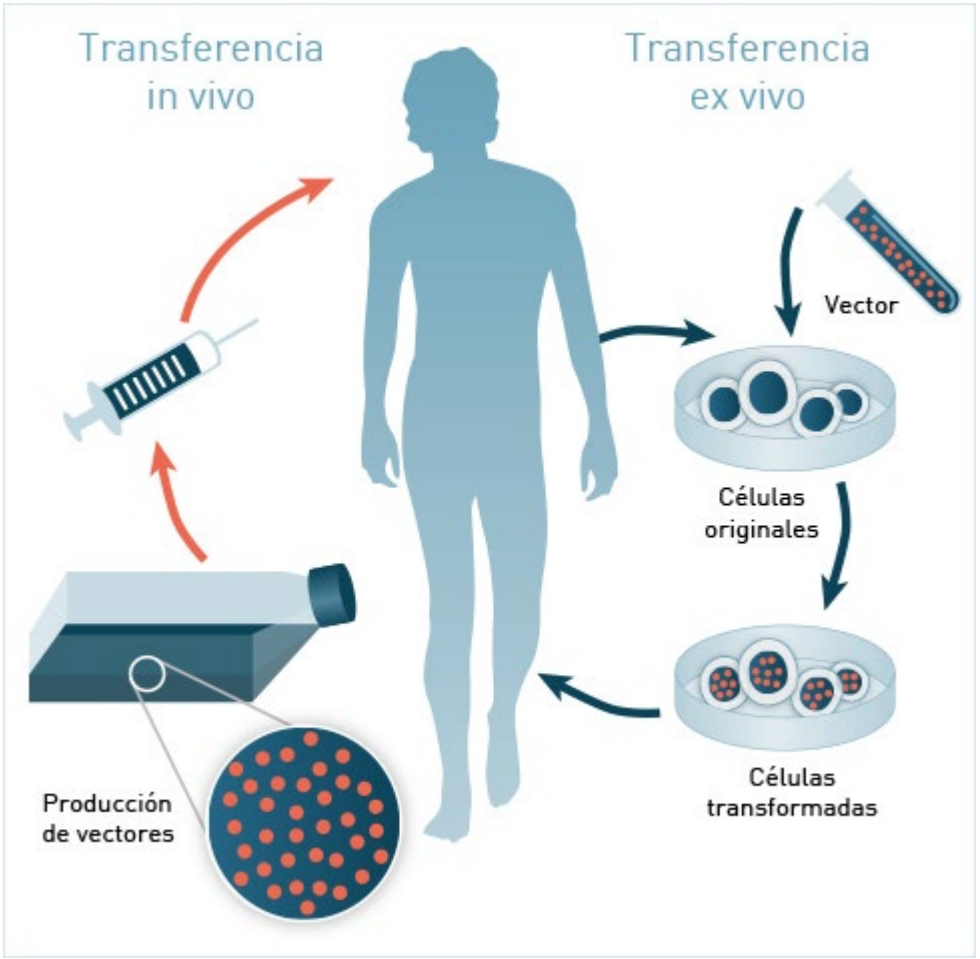
Medidas nutricionales: **Enzimas pancreáticos** para favorecer la absorción intestinal y **agua** en las épocas de calor.

Aparatos de ventilación mecánica: ayudan a **despejar las vías respiratorias** de las cantidades excesivas de moco

Terapia génica: Adenovirus, liposomas…..



TERAPIA GÉNICA PARA LA FQ



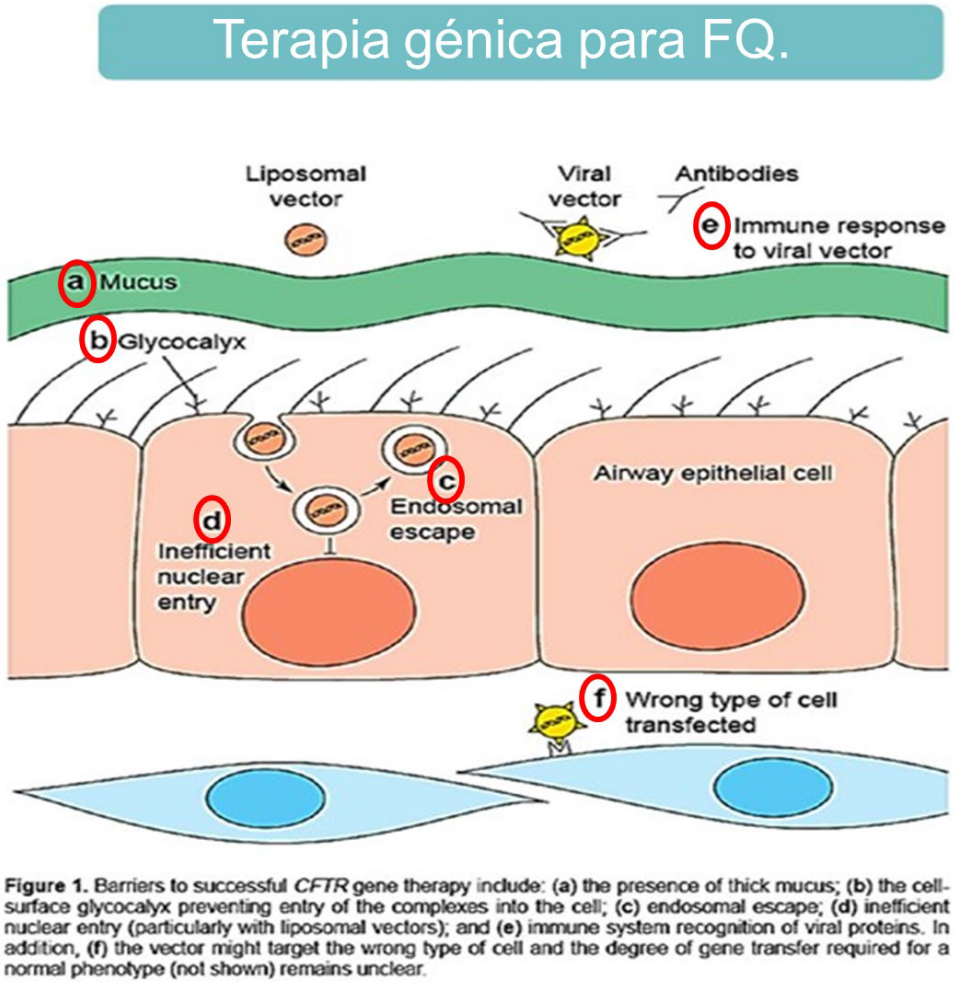
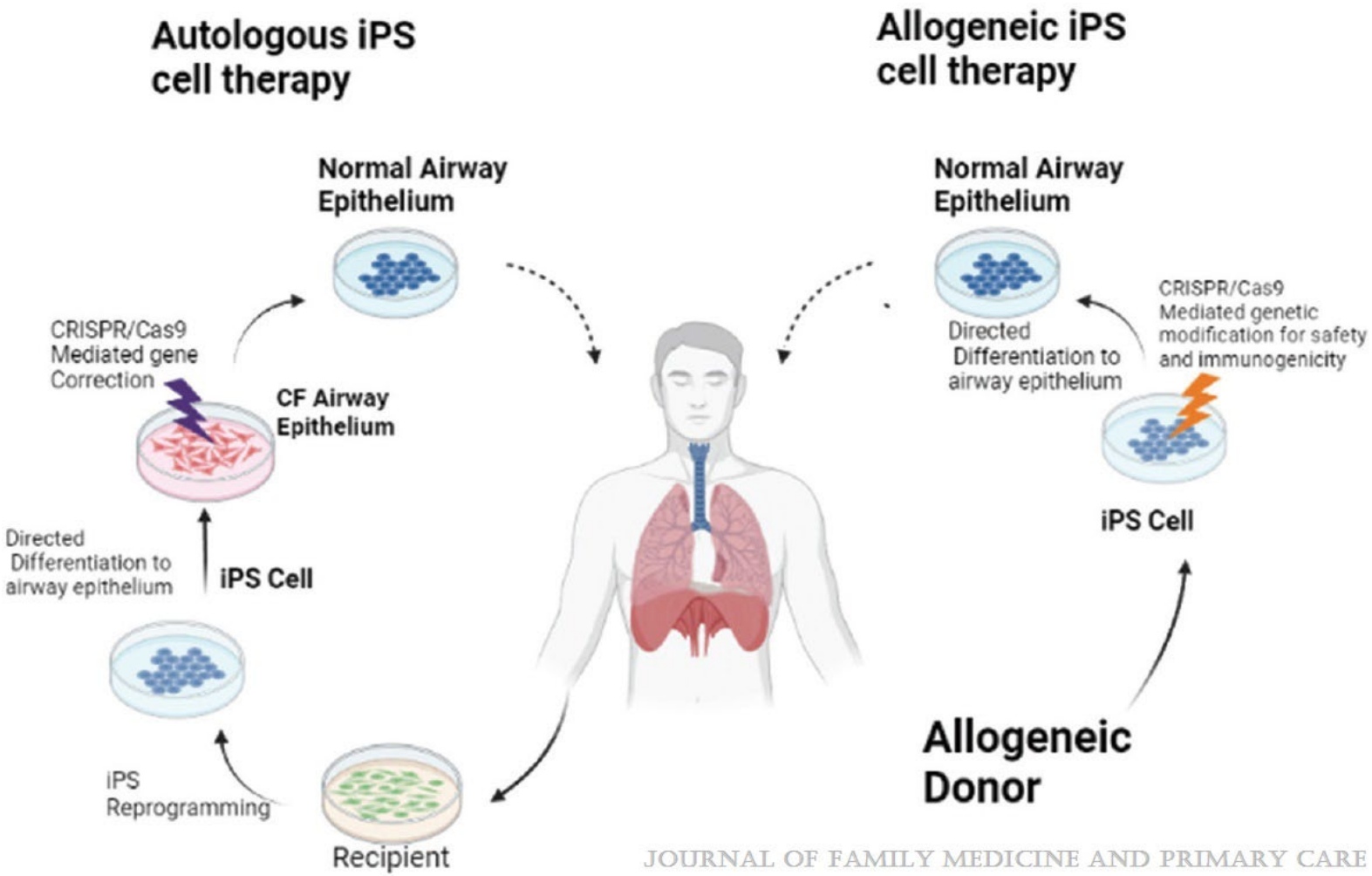


Figure 1. Barriers to successful *CFTR* gene therapy include: **(a)** the presence of thick mucus; **(b)** the cell-surface glycocalyx preventing entry of the complexes into the cell; **(c)** endosomal escape; **(d)** inefficient nuclear entry (particularly with liposomal vectors); and **(e)** immune system recognition of viral proteins. In addition, **(f)** the vector might target the wrong type of cell and the degree of gene transfer required for a normal phenotype (not shown) remains unclear.

- *IN VIVO*: el vector con el transgén se administra directamente al paciente para que se exprese durante toda la vida de la célula. **Mas sencilla, pero menos eficiente.**
  * Recientemente se experimenta con administración mediante **inhalación** (aerosoles). **Menos invasiva.**
- *EX VIVO*: se extraen las células del paciente. Se corrige en gen CFTR defectuoso. El vector integra el ADN en los cromosomas. Se expanden en cultivo. Se reimplantan en el paciente. **Complejidad alta.**

TERAPIA GÉNICA PARA LA FQ

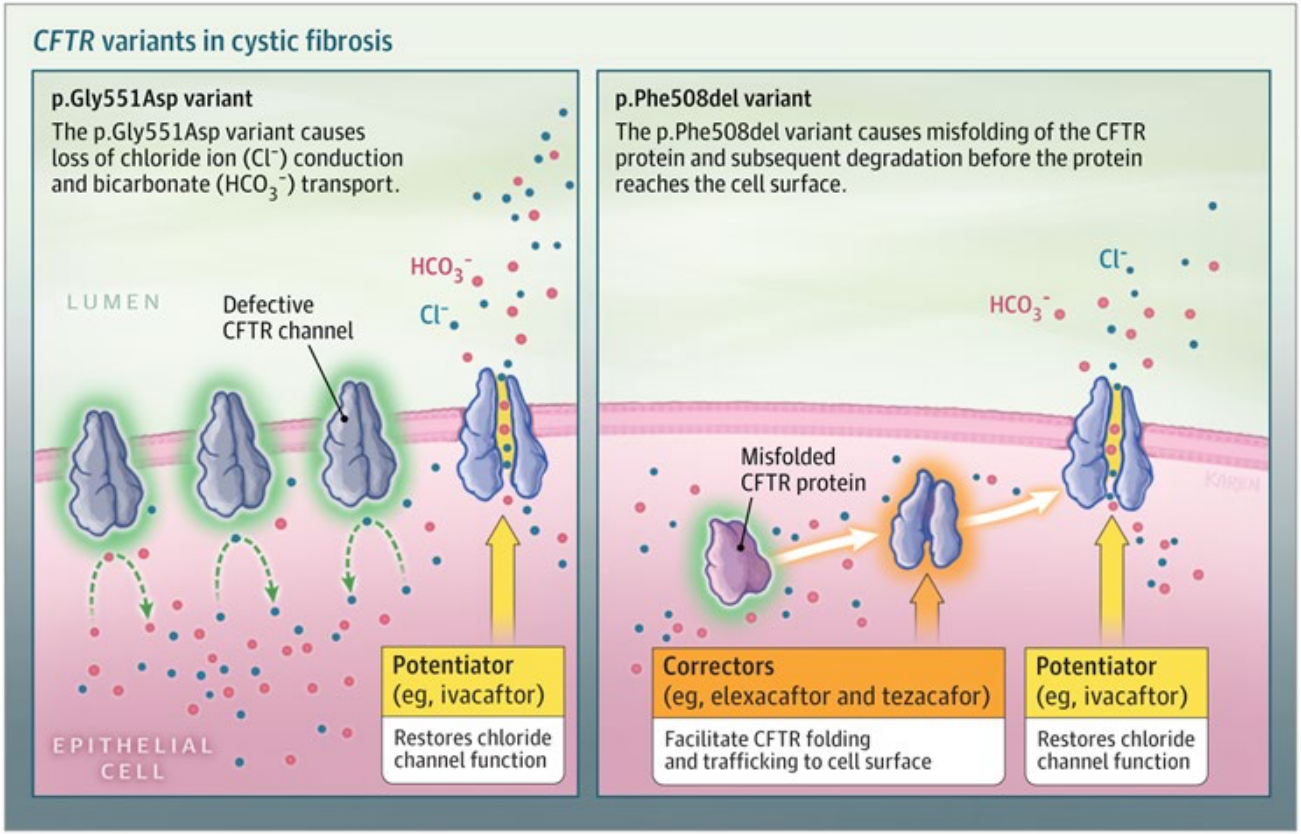


Journal of Family Medicine and Primary Care13(6):2200-2208, June 2024.

Using induced pluripotent stem cells, a schematic picture of cell-based therapy strategies is shown. In autologous iPS cell therapy, somatic cells from the CF patient are removed, multiplied, and **reprogrammed** to create induced pluripotent cells that are unique to that patient. Following **differentiation** into proximal airway epithelium and **genetic correction to produce normal airway epithelium**, these cells are transplanted back into the patient. In allogeneic iPS cell therapy, proximal airway epithelium is generated and transplanted into CF patients using a universal iPS line (from a healthy donor) that has been genetically engineered for safety and immunogenicity

MODULADORES DE LA PROTEÍNA CFTR

- **POTENCIADORES**: Aumentan la función del canal CFTR.
  * IVACAFTOR: mejora en función pulmonar y calidad de vida.
- **CORRECTORES**: Aumentan la cantidad de proteína CFTR en la superficie celular. Mejoran el plegamiento, facilitando el transporte a membrana. LUMACAFTOR, TEZACAFTOR y ELEXACAFTOR.
- **TERAPIAS COMBINADAS**: Doble, triple y cuádruple terapia.
  * TEZACAFTOR + ELEXACAFTOR + IVACAFTOR: **mejora notable** en aspectos respiratorios, digestivos, nutricionales, calidad de vida y supervivencia. Limitación: variante genética y edad del paciente.
  * *"Alyftrek, el nuevo modulador de CFTR triple VANZACAFTOR/TEZACAFTOR/DEUTIVACAFTOR, ha sido aprobado por la Comisión Europea. Los datos de la fase III demuestran eficacia y tolerabilidad en niños y adultos con fibrosis quística". Julio 2025*



JAMA. 2023;329(21):1859-1871. doi:10.1001/jama.2023.8120

Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Modulator Therapy Functions Actions of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) modulators as correctors and potentiators. People with at least 1 copy of the F508del variant or 177 other variants are **responsive to elexacaftor-tezacaftor-ivacaftor** combination therapy. Adapted from Cutting.

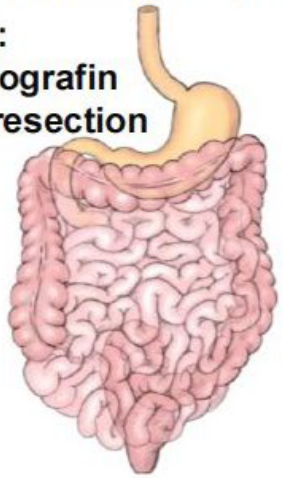
p.Gly551Asp indicates glycine at residue 551 replaced by aspartic acid; and p.Phe508del, phenylalanine deleted at position 508.

LA ELECCIÓN DEL MODULADOR DEPENDE DEL TIPO DE MUTACIÓN CFTR

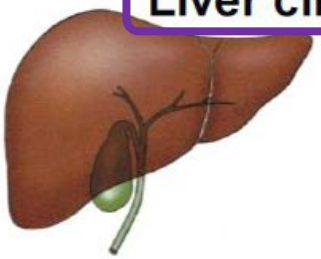
Tratamiento de la FQ.

Intestinal obstruction (meconium ileus, DIOS)

Therapy:
- gastrografin
- ileal resection



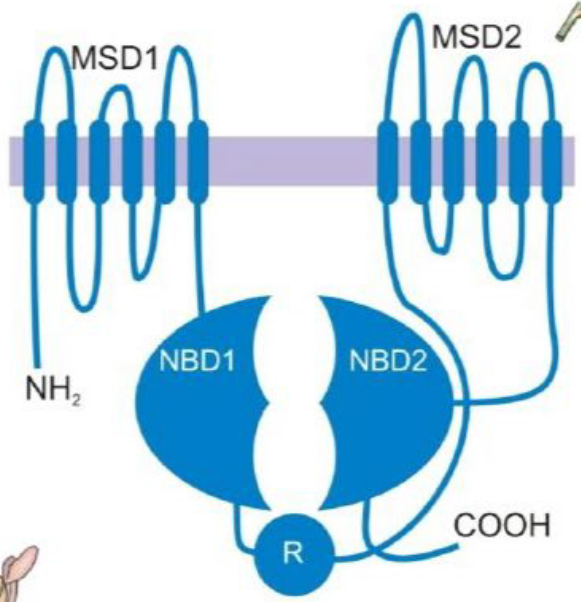
Liver cirrhosis

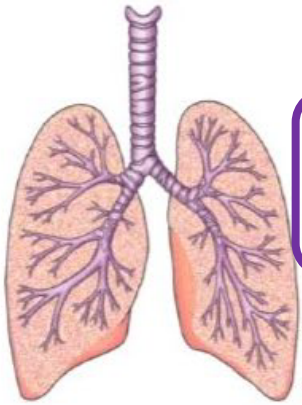


Therapy:
- ursodeoxycholate
- transplantation

Pancreatic fibrosis

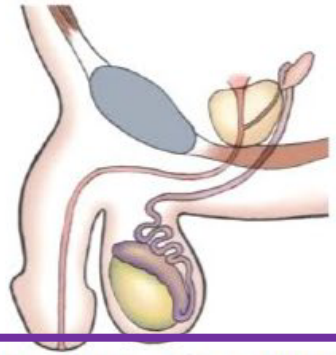
Therapy (oral):
- pancreatine
- vitamins
- lipid-rich diet





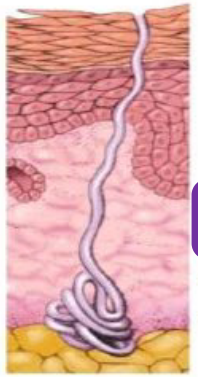
Lung inflammation and infection

Therapy:
-antibiotics
-anti-inflammatory agents
- mucolytics/DNAse
- physiotherapy
- transplantation



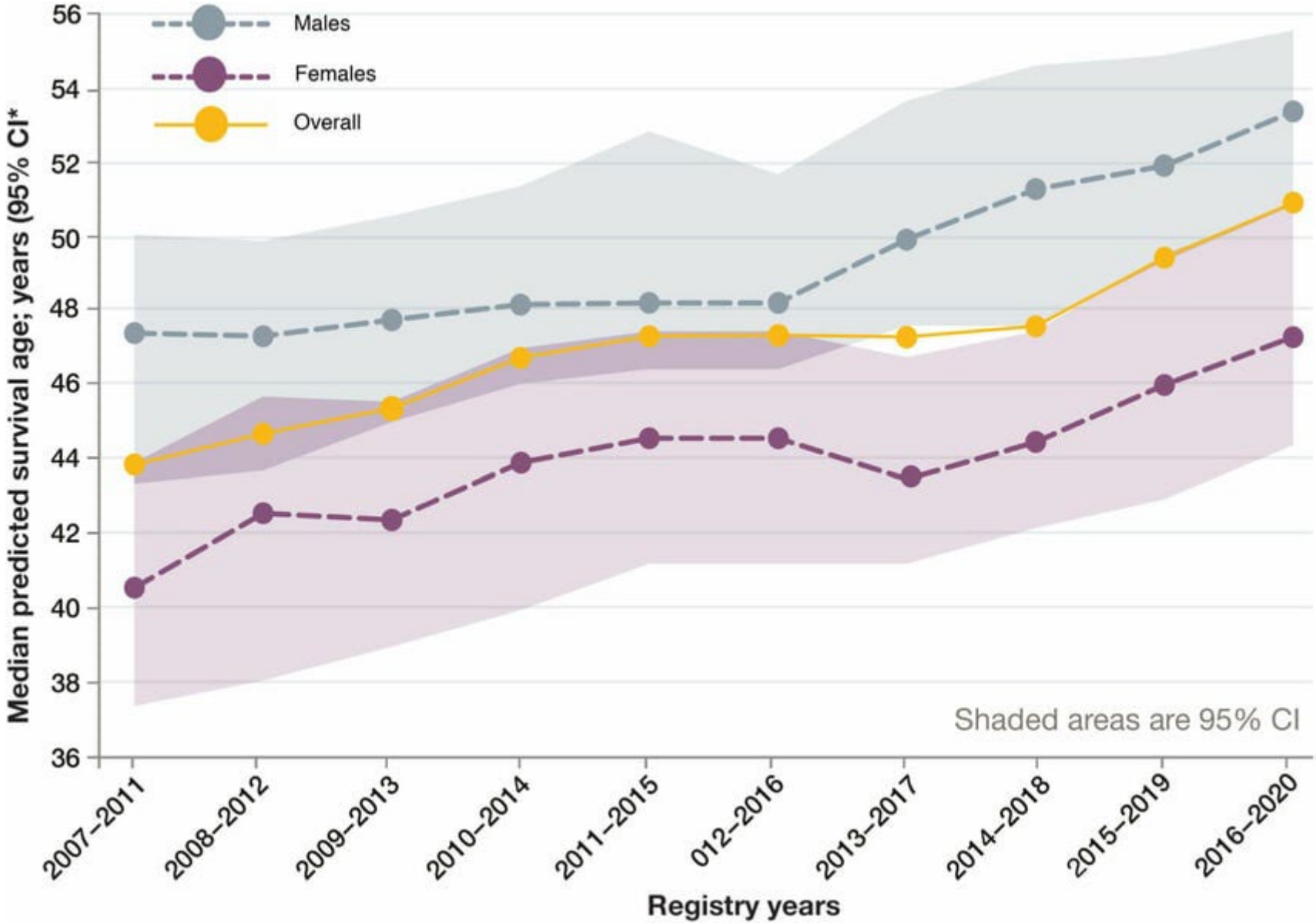
Male sterility (CBAVD)

Therapy:
- intracytoplasmic sperm injection

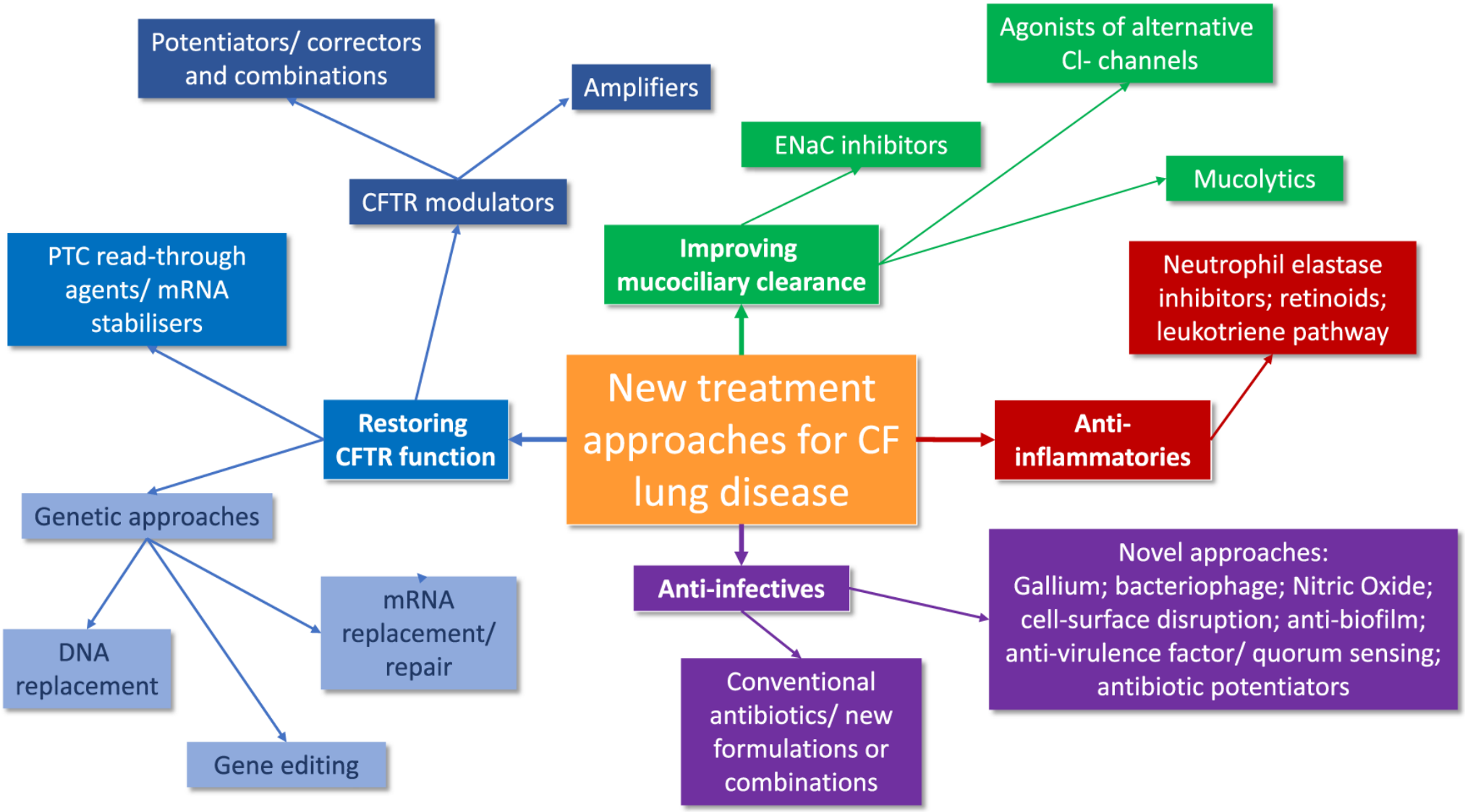


Salty sweat

Prevention:
- avoid excessive sweating



Improvements in median predicted survival in UK pwCF over recent years. From the CF Trust Patient Registry Report (https://www.cysticfibrosis.org.uk/sites/default/files/2022-03/2020%20Annual%20data%20report%20-%20Version%203.pdf).



(https://www.cysticfibrosis.org.uk/sites/default/files/2022-03/2020%20Annual%20data%20report%20-%20Version%203.pdf).